

花生成熟花粉的超微结构

席湘媛

(山东农业大学生命科学学院, 山东 泰安 271018)

摘要: 花生 (*Arachis hypogaea* L.) 成熟花粉为二细胞型, 具 3 个萌发沟, 少数有 4 个。外壁呈蜂窝状。花粉壁由覆盖层、基粒棒、外壁内层及内壁构成。营养细胞质有大量密集的线粒体、广泛分布的粗面内质网以及众多的脂体及含多数淀粉粒质体。线粒体嵴密集、相互平行, 脂体被粗面内质网包围。粗面内质网与外核膜相连, 亦与线粒体相连。高尔基体甚少。营养核无核仁及染色质, 与生殖细胞相连形成雄性生殖单位 (male germ unit)。生殖细胞纺锤形、有壁, 见一末端延伸成长尾状 (长 $8\mu\text{m}$)。细胞质含核糖体、线粒体、微管, 未见质体。在有些生殖细胞核内观察到具双层膜、少量嵴及深色内含物的球形结构, 其来源及本质尚不知, 有待进一步研究确定。

关键词 花生; 成熟花粉; 营养细胞; 生殖细胞; 扫描及透射电镜技术

中图分类号: Q 944 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253 - 2700(2001)02 - 0231 - 07

Ultrastructure of Mature Pollen in Peanut (*Arachis hypogaea*)

XI Xiang - Yuan

(College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: The mature pollen of peanut (*Arachis hypogaea* L.) is bicellular and tricolpate. The exine is faveolate. The pollen wall comprises of tectum, bacula, nexine and intine. The vegetative cell cytoplasm contains large amount of mitochondria, extensively distributive rough endoplasmic reticulum, numerous lipid bodies and plastids containing starch grains. The mitochondria are clustered, with many parallel cristae. The rough endoplasmic reticulum associates with not only the outer nuclear membrane but also the mitochondria. Lipid bodies are surrounded by rough endoplasmic reticulum. Few dictyosomes were observed. The vegetative nucleus without nucleolus and chromatin is associated with generative cell to form a male germ unit. The generative cell shows a wall, spindle - shaped with a long and tail - like extension ($8\mu\text{m}$ long) at one end. It is difficult to determine whether a similar extension is at the other end for lack of using serial sectioning. The generative cell cytoplasm contains mitochondria, ribosomes and microtubules but no plastid. The globular bodies with double membranes, a few cristae and dense inclusions are found within some generative nuclei. Their origin and nature are unknown and need to be further studied.

Key words: *Arachis hypogaea*; Mature pollen; Vegetative cell; Generative cell; Scanning and transmission electron microscopy

作者曾用塑料切片及组织化学技术在光镜水平上系统观察过花生花粉和胚囊的发育及

收稿日期: 2000 - 03 - 14, 2000 - 04 - 12 接发表

结构 (Xi, 1991)。本工作在前文的基础上, 对花生成熟花粉的超微结构进行了研究, 目的在于进一步理解营养细胞及生殖细胞的结构特点及功能。

1 材料及方法

花生徐州 68-4 品种, 种植于山东农大校园。一般于早晨 7 时以后开花。用于扫描电镜观察的材料取自开花前 1d 下午 6 时的花药, 用 FAA 固定, 置冰箱中保存, 然后系列酒精脱水, 自然干燥, 喷金, 在 JEM-1200EX 扫描电镜下观察、照相。透射电镜观察的材料取自开花前 1h 的花药, 用 3% 戊二醛 (pH 7.2) 及 2% 锇酸双固定, 清洗后, 系列酒精脱水, 经环氧丙烷过渡, 用 Epon 812 包埋。LKBNOVA 超薄切片机切片。醋酸双氧铀及柠檬酸铅染色。JEM-1200EX 透射电镜观察及照相。

2 观察结果

2.1 花粉外形及花粉壁

扫描电镜显示, 花生成熟花粉球形, 具 3 个萌发沟、少数有 4 个, 萌发沟内具棱由外壁构成。花粉外壁呈蜂窝状结构 (图版 I: 1, 2)。

花粉外壁由覆盖层、基粒棒及外壁内层构成, 电子密度中等 (图版 I: 3)。一些覆盖层外及基粒棒之间存在油脂物质、属花粉鞘物质 (pollenkitt)。花粉内壁电子密度透明 (图版 I: 3)。

2.2 营养细胞

花生的成熟花粉为二细胞型。营养细胞的细胞质特点是具大量群集的线粒体 (图版 I: 3~5), 广泛分布的粗面内质网 (图版 I: 3, 4, 6) 以及众多的脂体和含多数淀粉粒的质体 (图版 I: 3, 4, 6)。线粒体的嵴相互平行密集 (图版 I: 4~6)。在生殖细胞及营养核附近, 粗面内质网分布更多而较明显 (图版 II: 8~10), 有的与外核膜相连 (图版 II: 8~10)。观察到粗面内质网与线粒体相连的现象 (图版 I: 4, 6)。脂体被粗面内质网包围 (图版 I: 4, 6)。此外还有一些含絮状物质的小液泡 (图版 I: 3, 4, 6)。高尔基体甚少。由于不同的切面, 营养核近圆形或半圆形。浅瓣裂。核仁与异染色质已不复存在 (图版 II: 8~10)。光镜组织化学显示, 核质呈 ABB 正反应的蛋白质 (Xi, 1991)。

2.3 生殖细胞

生殖细胞为长纺锤形 (图版 II: 8, 9)。见一末端延伸成长尾状 (图版 II: 7), 长可达 $8\mu\text{m}$ 。细胞壁曲折折 (图版 II: 8~10), 光镜组织化学鉴定壁的成分为 PAS 正反应的多糖 (Xi, 1991)。周边的细胞质薄层, 电子密度深, 含核糖体及较多的线粒体, 线粒体嵴, 密集而互相平行 (图版 II: 12)。亦有与细胞长轴平行的微管 (图版 II: 11)。细胞末端细胞质含很多线粒体, 其嵴彼此不平行, 有别于周边细胞质的 (图版 II: 9)。未见到质体。细胞核相对大, 染色质凝集, 在有些生殖细胞核内, 观察到一至数个小球形结构, 它们有二层膜, 内有由内膜突出形成的少量嵴, 及深色内含物 (图版 II: 9, 12)。生殖细胞与营养核相连形成雄性生殖单位 (male germ unit) 的现象甚为普遍 (图版 II: 8~10), 在生殖细胞的横切片上, 观察到生殖细胞大部分被营养核包围。相连的生殖细胞与营养核之间的距离为 $45\sim 64\text{ nm}$ 。

3 讨论

3.1 花生成熟花粉的营养细胞质内含有众多的脂体及淀粉。此时, 淀粉已比中期的花粉减少 (Xi, 1991), 可能已有部分淀粉转变为脂肪或用于花粉内壁的形成。这些物质是花粉管萌发及生长的能源贮备, 且与较长花粉管的建成是相适应的。作者曾统计过, 花生雌蕊的花柱长度为 42~65 mm。花生的花粉管是沿着细长花柱的空心花柱道生长, 进入子房室后, 沿子房内壁表面生长, 横跨进入胚珠珠孔 (邢树平等, 1996)。在此生长历程中, 花粉管也许可能从花柱道中获得很少量的营养物质, 但主要是依靠花粉本身贮藏较多的营养物质, 方可源源不断地取得所需的能量。大量的线粒体以及它们多而密集的嵴, 说明此时的营养细胞是一个提供能量较大的细胞。旺盛的呼吸作用, 能释放出大量的能量, 供物质合成、运输及花粉管萌发、生长的需要。丰富而广泛分布的粗面内质网的存在, 表明蛋白质合成及蛋白质运输的活跃, 为花粉管的建成、生长, 提供了对蛋白质的需要。粗面内质网包围脂体, 曾见于多种植物的花粉 (Jensen, 1974; Cresti 等, 1988; Van Aelst 等, 1991, 1993; Polowick 等, 1993b)。这种互相联系的结构, 一般被认为与脂肪的积累及代谢有关 (Van Aelst 等, 1991, 1993; Polowick 等, 1993b)。过去曾报道过植物细胞内有叶绿体与线粒体相连 (Crotty 等, 1973; Montes 等, 1976)、叶绿体内含线粒体 (Brown 等, 1983)、线粒体与核外膜相连 (Crotty 等, 1973) 等现象。内质网与质体相连的情况, 曾见于百合科植物的二胞花粉 (Rodrigue-Garacia 等, 1978), 番茄的小孢子四分体、液泡化小孢子期 (Polowick 等, 1993a)、大葱的小孢子母细胞 (席湘媛, 2000)。本研究观察到粗面内质网与线粒体相连, 这种连系可能便于线粒体为内质网进行功能活动, 更有效的提供能量。

营养核的核仁消失, 标志着成熟花粉不再形成新的 rRNA 及核糖体。营养核与生殖细胞相连形成“雄性生殖单位”, 进一步证实了塑料切片光镜观察的结果 (Xi, 1991)。亦可说明塑料切片技术, 可用于观察“雄性生殖单位”是否存在, 比用电镜方便而经济。

3.2 纺锤形生殖细胞末端延伸成长尾状, 曾见于柳穿鱼 (*Linaria vulgaris*) (Cresti 等, 1988), 长果罂粟 (*Papaver dubium* L.) (Van Aelst 等, 1991) 及三角叶杨 (*Populus deltoides*) (Rougier 等, 1991), 但它们的尾长均不及花生的。本工作只观察到花生生殖细胞一个末端的尾状延伸, 是否两个末端均具长尾? 由于未进行连续切片, 难以判断。这种具尾状的结构, 可能便于生殖细胞进入花粉管及在花粉管中移动。大量资料仍认为生殖细胞质中的微管有维持细胞形状的作用 (胡适宜, 1998)。是否使生殖细胞具自主运动的功能、尚缺乏证据。生殖细胞质内缺质体, 故花生质体应属母系单亲遗传。在烟草精子核内, 曾发现有线粒体存在 (Yu & Russell, 1994)。其形成过程, 是在生殖细胞核分裂时, 有丝分裂场内的线粒体进入了纺锤体, 以后被精子核膜包围于核内。这种核线粒体还传递到合子核及初生胚乳核内 (Yu & Russell, 1994)。花生生殖细胞核内的小球形体, 有双层膜、少量嵴及深色内含物的存在, 但其形态结构与生殖细胞细胞质内的线粒体很不一样, 要确证其来源及真正的本质, 有待于小孢子有丝分裂及生殖细胞形成过程的电镜研究。

[参考文献]

- 邢树平, 席湘媛, 1996. 花生的双受精作用 [J]. 山东农业大学学报, 27: 33-38
- 胡适宜, 1998. 被子植物双受精发现 100 年: 回顾与展望 [J]. 植物学报, 40: 1-13
- 席湘媛, 2000. 大葱小孢子母细胞至二胞早期花粉发育的超微结构观察 [J]. 云南植物研究, 22: 161-168
- Brown R H, Rigaby L L, Akin D E, 1983. Enclosure of mitochondria by chloroplasts [J]. *Plant Physiol*, 71: 437-439
- Cresti M, Milanesi C, Tiezzi A, et al, 1988. Ultrastructure of *Linaria vulgaris* pollen grains [J]. *Acta Bot Neerl*, 37: 379-386
- Crotty W J, Ledbetter M C, 1973. Membrane continuities involving chloroplasts and other organelles in plant cells [J]. *Science*, 182: 839-841
- Jensen W A, Ashton M, Heckard L R, 1974. Ultrastructural studies of the pollen of subtribe Castilleiinae, family Scrophulariaceae [J]. *Bot Gaz*, 135: 216-218
- Montes G, Bradbeer J W, 1976. An association of chloroplasts and mitochondria in *Zea mays* and *Hyptis suaveolens* [J]. *Plant Sci Lett*, 6: 35-41
- Polowick P L, Sawhney V K, 1993a. An ultrastructural study of pollen development in tomato (*Lycopersicon esculentum*). I. Tetrad to early binucleate microspore stage [J]. *Can J Bot*, 71: 1039-1047
- Polowick P L, Sawhney V K, 1993b. An ultrastructural study of pollen development in tomato (*Lycopersicon esculentum*) II. Pollen maturation [J]. *Can J Bot*, 71: 1048-1055
- Rodriguez-Garcia M I, Garcia A, 1978. Differentiation of the plastid population during microsporogenesis and the development of the pollen grain in the Liliaceae [J]. *Biol Cell*, 33: 63-70
- Rouger M, Jnoud N, Said C, et al, 1991. Male gametophyte development and formation of the male germ unit in *Populus deltoides* following compatible pollination [J]. *Protoplasma*, 162: 140-150
- Van Aelst A C, Van Went J L, 1991. The ultrastructure of mature *Papaver dubium* L. Pollen grains [J]. *Acta Bot Neerl*, 40: 319-328
- Van Aelst A C, Pierson E S, Van Went J L, et al, 1993. Ultrastructural changes of *Arabidopsis thaliana* pollen during final maturation and rehydration [J]. *Zygote*, 1: 173-179
- Xi X Y, 1991. Development and structure of pollen and embryo sac in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Bot Gaz*, 152: 164-172
- Yu H S, Russell S D, 1994. Occurrence of mitochondria in the nuclei of tobacco sperm cells [J]. *Plant Cell*, 6: 1477-1484

图版说明

B 基粒棒; GC 生殖细胞; GN 生殖细胞核; I 内壁; L 脂体; M 线粒体; N 外壁内层; P 质体; PK 花粉鞘; R 核糖体; RER 粗面内质网; S 淀粉粒; T 覆盖层; V 液泡; VN 营养核; W. 生殖细胞壁

图版 I 1, 2. 花生成熟花粉扫描电镜照片示萌发沟及外壁。3. 花粉壁各层及营养细胞质。4. 营养细胞质示线粒体、粗面内质网及与线粒体相连(箭)、脂体及含淀粉质体。5. 图 4 一部分放大示线粒体。6. 营养细胞质示脂体被粗面内质网包围。

图版 II 7. 生殖细胞一部分示末端之尾状延伸(箭头)。8, 10. 生殖细胞与营养核相连接。9. 相连的生殖细胞与营养核的一部分, 示生殖细胞壁、线粒体、及细胞核内的球形体(箭)。11. 生殖细胞质中的微管(箭)。12. 生殖细胞质中的线粒体、核糖体及细胞核中的球形体(箭)。

Explanation of Plates

B; Bacula; GC; Generative cell; GN; Generative nucleus; I; Intine; L; Lipid body; M; Mitochondrion; N; Nexine; P; Plastid; PK; Pollenkitt; R; Ribosome; RER; Rough endoplasmic reticulum; S; Starch grain; T; Tectum; V; Vacuole; VN; Vegetative nucleus; W; Generative cell wall

Plate I 1, 2. Scanning electron micrographs of mature pollen grains of *Arachis hypogaea* L. showing germ furrows and faveolate exine. 3. Layers of pollen wall and cytoplasm of vegetative cell. 4. Vegetative cytoplasm showing mitochondria, rough endoplasmic reticulum and its association with mitochondria (arrows), lipid bodies and plastids containing starch grains. 5. Larger magnification of a part of fig.4 showing mitochondria. 6. Vegetative cytoplasm showing lipid bodies surrounded by rough endoplasmic reticulum. Arrows show rough endoplasmic reticulum associated with mitochondrion.

Plate II 7. Part of a generative cell showing a long tail-like extension (arrow heads). 8, 10. Generative cell and vegetative nucleus connected. 9. Part of connected generative cell and vegetative nucleus showing generative cell wall, mitochondria and globular bodies (arrows) in nucleus. 11. Microtubules (arrows) in cytoplasm of generative cell. 12. Part of a generative cell showing mitochondria, ribosomes and globular body (arrow).

书评 Book Review

《湖南植物志》(第2卷) *Flora of Hunan* (vol.2), 刘克明主编(本志主编:李丙贵), 沙飞责任编辑。湖南科学技术出版社出版。2000, 1~888页, 彩图48幅。书号 ISBN7-5357-2243-1/Q·39。定价160元。

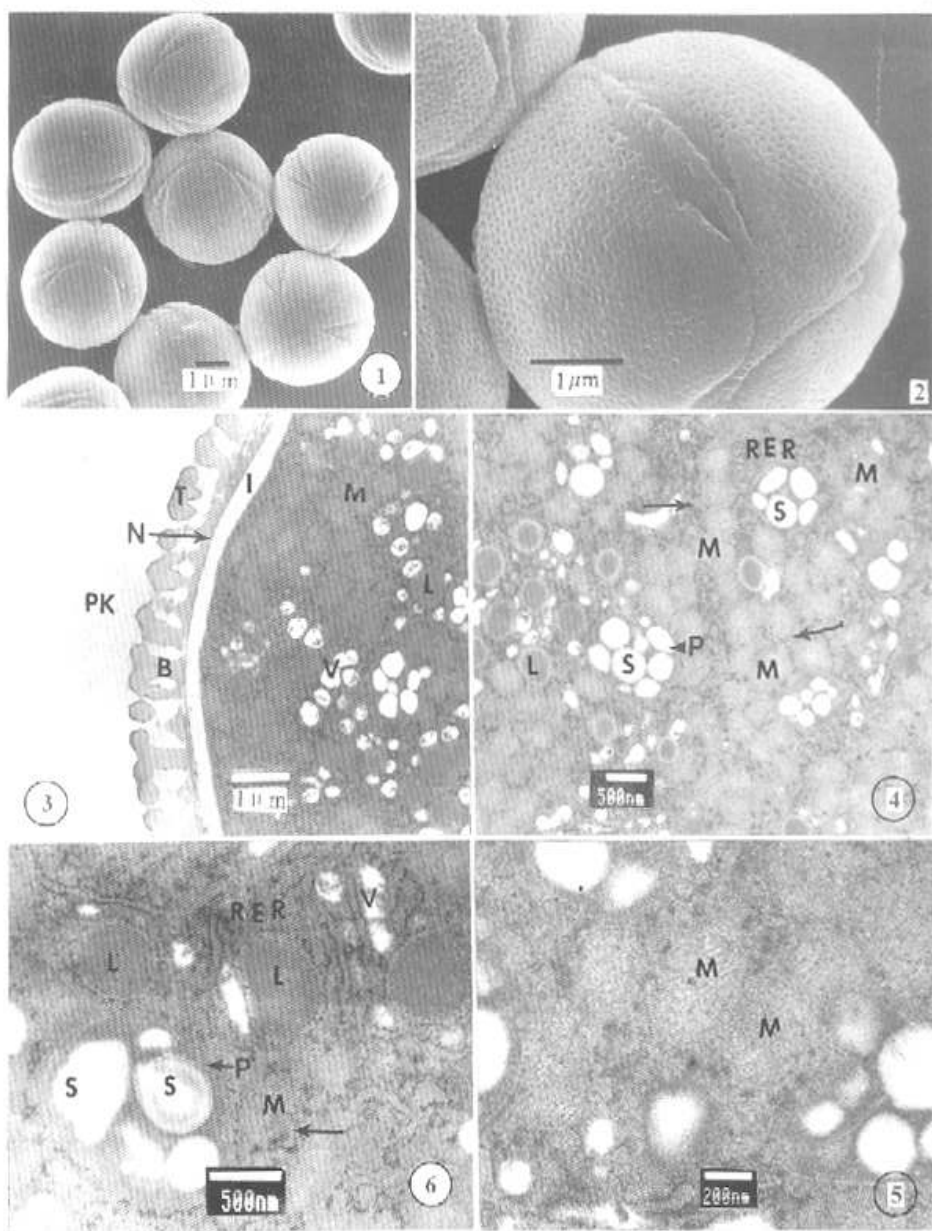
本书是与读者见面的第1本《湖南植物志》, 它是本卷主编刘克明及其合作者, 经过20余年的研究而协力完成的。本书记述了裸子植物和被子植物(杨梅科—芍药科, 采用 Engler 系统)的57科227属1021种和变种, 配有墨线图410幅和彩色照片48幅。作者对每个种进行了全面而简洁的记述, 包括中文名和主要地方名、拉丁学名、主要文献引证及异名、形态特征、详细的产地、生境和海拔高度、国内外分布状况、经济用途等等, 60%的种类附有图版或彩图。全书规范统一、协调有序。

本书的主要特点是: 1) 种类齐全, 它充分反映了湖南丰富的植物种类, 全面记述了本卷所涵盖的植物类群; 2) 文字简练、明晰, 让读者对所描述的对象一目了然; 3) 描述准确, 对植物标本进行了大量细致的观察, 抓住了植物的形态特点; 4) 绘图精美, 图版大而精确, 许多都是根据标本或活植物认真仔细描绘出来的, 生动逼真; 5) 产地详细, 所有种类精确到县(区), 部分种类精确到了乡或更具体的地点; 6) 尊重著作权, 凡引用或参考他人的绘图, 均注明出处; 7) 应用性强, 对于具有经济用途的种类, 简明扼要地介绍了具体用途、化学成分等情况, 利于今后合理开发利用。本书图文并茂, 优点十分突出, 是我国地方植物志中的佼佼者。正如王文采院士所评价的那样: 本书“种类齐全, 描述简要, 绘图精美, 印刷精良, 质量甚高!”

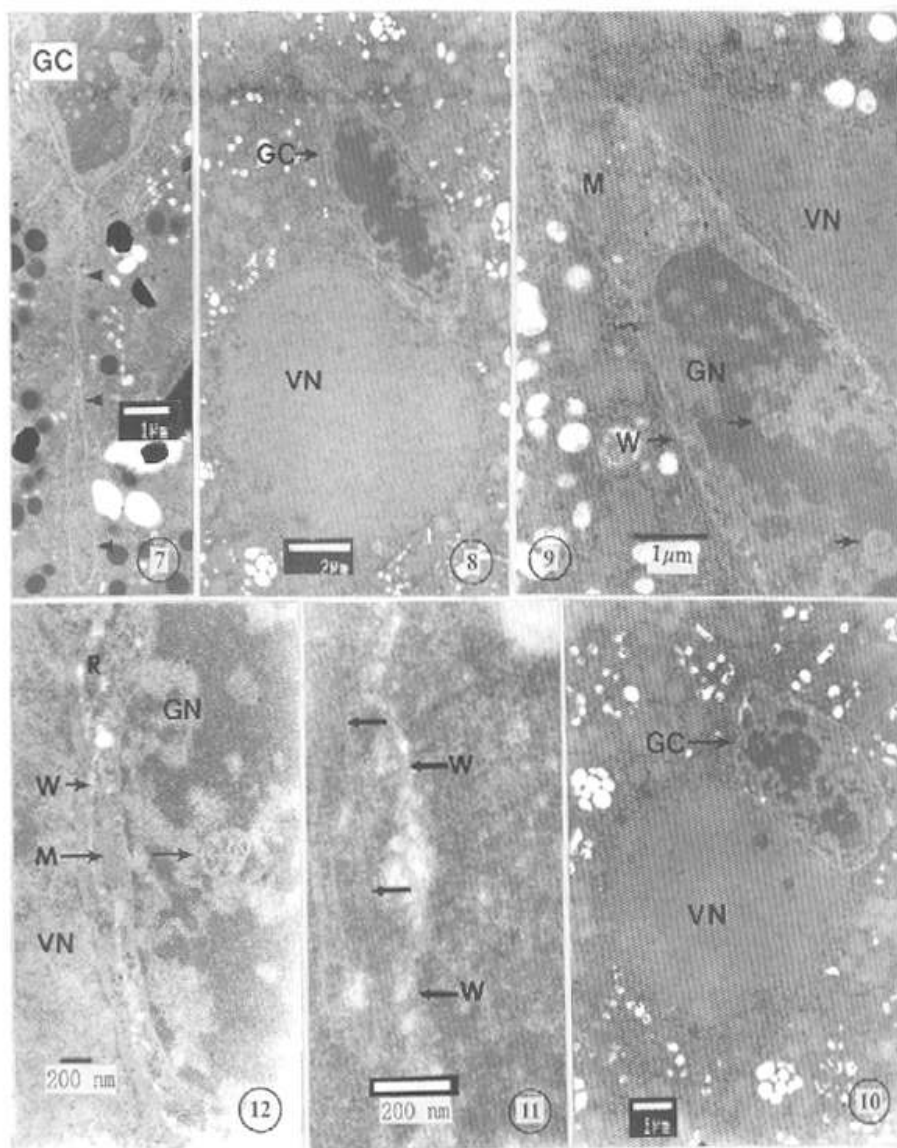
由于其特殊的自然历史条件、温和的气候、复杂的地貌等因素, 湖南的植物资源十分丰富。在植物区系方面, 湖南是云贵高原植物区系向华东地区植物区系过渡的一个地区, 拥有许多原始成分和东亚特有成分, 在中国植物区系中占有重要地位。本书的出版, 对于植物学工作者了解和研究湖南的植物, 提供了大量的第一手资料。

一些小的细节, 可能是由于笔误或印刷上的问题, 建议在再版时参考。如第37页“杉木”的文献引证中 *Cultis's* 应为 *Curtis's*; 第226页构树的用途中, 建议增加“叶可作饲料”, 因为构树叶是湖南和其它省区较普遍的一种饲料; “拉丁名索引”中, 也有一些小笔误。总之, 一些小纰漏, 不失大雅。

(中国科学院昆明植物研究所, 龙春林)



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text